

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE FARMÁCIA  
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO DE FARMÁCIA

INVESTIGAÇÃO CLÍNICA E BIOQUÍMICA DE PACIENTES HOMOCISTINÚRICOS  
SOB TRATAMENTO DIETÉTICO E FARMACOLÓGICO

BIANCA GOMES DOS REIS

PORTO ALEGRE

2022

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE FARMÁCIA  
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO DE FARMÁCIA

INVESTIGAÇÃO CLÍNICA E BIOQUÍMICA DE PACIENTES HOMOCISTINÚRICOS  
SOB TRATAMENTO DIETÉTICO E FARMACOLÓGICO

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao Curso de Farmácia da  
Universidade Federal do Rio Grande do  
Sul como requisito à obtenção do título  
de grau de Farmacêutica.

BIANCA GOMES DOS REIS

Orientadora: Prof. Dra. Carmen Regla Vargas  
Coorientadora: Dra. Angela Sitta

PORTO ALEGRE  
2022

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço à minha família e as pessoas mais importantes da minha vida, meus pais Patrícia e Lairton. Obrigada por todo o esforço, dedicação e apoio que vocês me deram durante esses 6 anos, sei que fizeram o possível e o impossível para que eu pudesse concluir essa jornada. Vocês são minhas inspirações de vida, me ensinaram a nunca desistir nos momentos difíceis e sempre correr atrás dos meus sonhos. Agradeço em especial à minha tia, meu tio e minha avó que nunca deixaram de me apoiar e ajudar. E agradeço ao meu padrasto Bruno e à família dele por terem me “adotado” e me ajudado durante meu percurso. Sou muito grata por tudo que vocês fizeram e espero que um dia eu possa retribuir a cada um. Obrigada por tudo família, amo vocês!

Agradeço à minha orientadora Prof. Dra. Carmen Regla Vargas, por ter me proporcionado a oportunidade de conhecer o mundo científico. Tu és uma inspiração profissional para mim. Obrigada por sempre estar do meu lado e acreditar em mim.

Agradeço à minha coorientadora Dra. Angela Sitta por todos os ensinamentos durante esses anos de Iniciação Científica e por ser uma mulher inspiradora. Quero agradecer a essas duas farmacêuticas incríveis por estarem ao meu lado durante a graduação. A admiração que eu tenho por vocês é imensa e é o que me faz ter a certeza de que escolhi a profissão certa.

Agradeço à minha parceira de laboratório Fran, obrigada por estar comigo desde o início da Iniciação Científica e se tudo der certo, continuaremos com essa parceria por mais uns anos na pós-graduação.

Agradeço às minhas grandes amigas, Lauren Knewitz, Marina Araujo, Marian Signori, Bruna Wortmann e Giovanna Signori. Vocês foram essenciais durante esses 6 anos e tornaram essa caminhada mais leve. Obrigada por todas as risadas e por sempre ouvirem meus surtos. Obrigada por acreditarem no meu potencial e por estarem sempre presentes na minha vida, não conseguiria chegar até aqui sem vocês.

Agradeço a todos os colegas e amigos de graduação, não seria possível passar por todas químicas, provas e obstáculos sem vocês.

Por fim, agradeço a todos que de alguma forma cruzaram meu caminho e fizeram parte dessa trajetória. Obrigada!

## **APRESENTAÇÃO**

Este artigo foi elaborado segundo as normas da Revista “Clinical and Biomedical Research” (CBR) na qualidade de “Artigo Original” apresentadas em anexo (Anexo 2).

## RESUMO

**Introdução:** A Homocistinúria (HCU) é caracterizada pelo acúmulo dos aminoácidos homocisteína e metionina nos fluidos biológicos. Ainda existem poucos estudos sobre o perfil de pacientes homocistinúricos brasileiros. Por isso, o objetivo deste estudo foi descrever os dados clínicos e laboratoriais dos pacientes diagnosticados tardiamente, a fim de relacionar os achados bioquímicos dos níveis de homocisteína e metionina ao longo do tratamento para a HCU e realizar um levantamento dos tratamentos mais utilizados na prática clínica. **Métodos:** Realizou-se a análise dos prontuários de 17 pacientes para a coleta de informações clínicas e perfil de aminoácidos no diagnóstico e em três momentos distintos do tratamento. **Resultados:** Em relação aos achados clínicos, 11 pacientes (64,7%) apresentavam luxação do cristalino (*ectopia lentis*) como principal distúrbio clínico. No que se refere ao tratamento, 15 pacientes (88,2%) estavam em uso de ácido fólico, 14 pacientes (82,3%) em uso de piridoxina (vitamina B6), 12 pacientes (70,6%) em uso de betaína, 7 pacientes (41,2%) em uso de vitamina B12, 4 pacientes (23,5%) em uso de ácido acetilsalicílico e 7 pacientes (41,2%) estavam em dieta hipoproteica com restrição de metionina. A análise estatística do perfil de homocisteína, revelou que houve diminuição significativa entre o diagnóstico e o momento 3. No que diz respeito aos níveis de metionina, houve diminuição significativa tanto entre o diagnóstico e o momento 2, quanto entre o diagnóstico e o momento 3. **Conclusão:** Os resultados revelam que os pacientes diagnosticados tardiamente reduziram os níveis de homocisteína e metionina ao longo do tratamento, mas não atingiram os níveis bioquímicos ideais, demonstrando a dificuldade de adesão ao tratamento, principalmente em pacientes homocistinúricos com diagnóstico tardio.

**Palavras-chave:** Homocistinúria, homocisteína, metionina, erros inatos do metabolismo.

## ABSTRACT

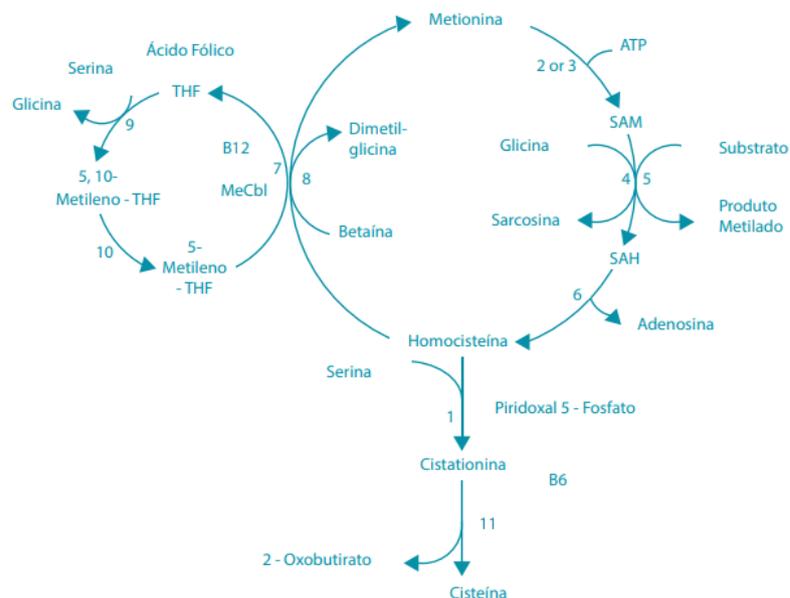
**Introduction:** Homocystinuria (HCU) is characterized by the accumulation of the amino acids homocysteine and methionine in biological fluids. There are still few studies about the profile of Brazilian homocystinuric patients. Therefore, the objective of this study was to describe the clinical and laboratory information of patients diagnosed late, relate the biochemical findings of homocysteine and methionine levels throughout treatment for HCU, and describe the most used treatments in clinical practice. **Methods:** The medical records of 17 patients were analyzed to collect clinical information and amino acids profile at diagnosis and at three different times of treatment. **Results:** About the clinical findings, 11 patients (64.7%) had lens dislocation (*ectopia lentis*) as the main clinical disorder. About the treatment, 15 patients (88.2%) were using folic acid, 14 patients (82.3%) were using pyridoxine (vitamin B6), 12 patients (70.6%) were using betaine, 7 patients (41.2%) were using vitamin B12, 4 patients (23.5%) were using acetylsalicylic acid, and 7 patients (41.2%) were on a low-protein diet with methionine restriction. Statistical analysis of the homocysteine profile revealed that there was a significant decrease between diagnosis and moment 3. The methionine levels decreased significantly both between diagnosis and moment 2, and between diagnosis and moment 3. **Conclusion:** The results reveal that patients diagnosed late had reduced levels of homocysteine and methionine throughout treatment. However, these patients did not reach normal biochemical levels, demonstrating the difficulty of adherence to treatment, especially in homocystinuric patients with late diagnosis.

**Keywords:** Homocystinuria, homocysteine, methionine, inborn errors of metabolism.

## INTRODUÇÃO

A Homocistinúria (HCU) é um Erro Inato do Metabolismo (EIM), de herança autossômica recessiva, caracterizada pelo acúmulo dos aminoácidos homocisteína e metionina nos fluidos biológicos. A deficiência de cistationina  $\beta$ -sintase (CBS) pela mutação no gene CBS é a causa mais frequentemente encontrada de HCU [1]. Defeitos genéticos envolvendo as enzimas metilenotetrahidrofolato redutase (MTHFR) e metionina sintase também podem levar ao acúmulo de homocisteína em fluidos biológicos, porém a maioria dos casos que envolve a deficiência de CBS leva concomitantemente ao aumento dos níveis de metionina, o qual está ausente nas condições genéticas da deficiência de MTHFR e de metionina sintase [2].

O metabolismo da metionina e homocisteína (figura 1) envolve a enzima CBS, sendo o ponto regulatório na biossíntese de cisteína através da via de transsulfuração. A enzima CBS catalisa uma reação de substituição  $\beta$  dependente de piridoxal 5'-fosfato (PLP), ocorrendo a condensação de serina e homocisteína para formar cistationina que é posteriormente convertida em cisteína pela ação da cistationina  $\gamma$ -liase (CGL) [3]. A elevação de homocisteína total (tHcy) é quase sempre acompanhada por elevações de metionina, uma vez que a metionina provinda da dieta é convertida em homocisteína por diversas reações enzimáticas [2].



**Figura 1.** Metabolismo da metionina e homocisteína. SAM, S-adenosilmetionina; SAH, S-adenosilhomocisteína; THF, Tetrahidrofolato; MeCbl, Metilcobalamina. Cada passo da rota (1 a 11) é catalisado por uma enzima: 1, CBS; 2, metionina adenosiltransferase I/III; 3, metionina

adenosiltransferase II; 4, glicina N - metiltransferase; 5, numerosas metiltransferases; 6, S - adenosilhomocisteína hidrolase; 7, metionina sintase; 8, betainahomocisteína metiltransferase; 9, serina hidroximetiltransferase; 10, MTHFR; 11, cistationina gama-liase (Adaptado de Morris et al. 2017).

A HCU ainda não faz parte do Programa de Triagem Neonatal no Brasil, dificultando o diagnóstico precoce destes pacientes. Assume-se que a prevalência mundial da HCU varia de 1:58.000 a 1:1.000.000 recém-nascidos [2]. Em Portugal, o diagnóstico precoce de HCU se dá através da determinação da concentração de metionina por Espectrometria de Massas em Tandem (LC/MS/MS) obtida em amostras de sangue em cartão no teste do pezinho ampliado [4].

A HCU se não diagnosticada precocemente pode ocasionar comprometimento ocular (*ectopia lentis*, miopia, glaucoma, descolamento de retina, entre outros), esquelético (escoliose, osteoporose, vértebras bicôncavas, espículas metafisárias, pés cavos, palato arqueado, aumento do tamanho de ossos longos, dolicostenomelia, aracnodactilia, entre outros), vascular (tromboembolismo, flush malar, livedo reticularis) e neurológico (acidentes vasculares cerebrais, manifestações psiquiátricas, deficiência intelectual, sinais extrapiramidais, anormalidades eletroencefalográficas entre outros) [5,6]. Existem duas formas clínicas da deficiência de CBS: responsiva à piridoxina (responsiva vitamina à B6) e não responsiva à piridoxina (não responsiva à vitamina B6). A primeira forma clínica inclui pacientes que, em uso de piridoxina, atingem níveis plasmáticos de homocisteína abaixo de 50  $\mu\text{mol/L}$ . Já a forma não-responsiva à piridoxina engloba pacientes que, em uso de piridoxina, não atingem níveis plasmáticos de homocisteína abaixo de 50  $\mu\text{mol/L}$ , e que mantêm esses níveis acima de 80% dos níveis basais após o teste de responsividade [5].

O diagnóstico da HCU é baseado no diagnóstico clínico na presença de um ou mais sintomas clínicos, porém o diagnóstico definitivo exige a confirmação laboratorial [5]. O diagnóstico laboratorial é realizado através da quantificação de tHcy em plasma por LC/MS/MS e de metionina por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). Os valores de referência para tHcy e metionina são <15  $\mu\text{mol/L}$  e <42  $\mu\text{mol/L}$ , respectivamente [7].

Embora a fisiopatologia da HCU ainda não esteja completamente elucidada, foi visto que o excesso de homocisteína ou deficiência de cisteína é a causa mais provável dos distúrbios clínicos desta doença. Além disso, o estresse oxidativo pelo

acúmulo de homocisteína pode desempenhar um papel importante na patogênese da HCU [3,8-10]. Portanto, sabe-se que o objetivo principal é controlar os distúrbios bioquímicos (reduzindo os níveis de homocisteína e metionina) e as complicações clínicas da doença [2]. Os pacientes responsivos à vitamina B6 geralmente utilizam suplementação de piridoxina, uma vez que é o cofator da enzima CBS, na dose de aproximadamente 200 mg/dia e dieta com restrição proteica. Já os pacientes não responsivos à B6 requerem restrição da ingestão de metionina e o uso de betaína na dose de 6-9 g/dia [11]. Além disso, folato e vitamina B12 também são utilizados como terapia adjuvante (5 mg/dia de ácido fólico e 1 mg intramuscular injeção por mês de vitamina B12 na forma de hidroxocobalamina), uma vez que otimizam a conversão de homocisteína em metionina pela metionina sintase, ajudando assim a diminuir a concentração plasmática de homocisteína [12]. Entretanto, existem poucos estudos relacionando os achados bioquímicos dos níveis de homocisteína e metionina ao longo do tratamento para a HCU, além de não se ter um levantamento dos tratamentos farmacológicos mais utilizados na prática clínica. Por isso, o objetivo deste estudo foi descrever os dados clínicos e laboratoriais de pacientes diagnosticados tardiamente com HCU no Serviço de Genética Médica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (SGM/HCPA), a fim de relacionar os achados bioquímicos dos níveis de homocisteína e metionina ao longo do tratamento e realizar um levantamento dos tratamentos mais utilizados na prática clínica.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

O presente estudo foi aprovado sob número 2008-0322 pelo Comitê de Ética do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, RS, Brasil. Foram incluídos 17 pacientes diagnosticados com HCU no SGM/HCPA em um período de onze anos (entre 2010-2021). Mediante aos prontuários médicos dos pacientes, foram coletados dados clínicos (idade, sexo, consanguinidade, sinais e sintomas), perfil de aminoácidos no diagnóstico e em três momentos distintos do tratamento (com diferença de um ano entre cada momento), bem como os dados referentes ao tratamento dietético e farmacológico destes pacientes.

Os testes para o diagnóstico da HCU foram realizados no centro de referência em questão, conforme descrito abaixo:

### **Dosagem de aminoácidos por CLAE**

O perfil de aminoácidos foi analisado em plasma por CLAE (HPLC, Shimadzu), utilizando uma coluna cromatográfica de fase reversa (C18 250 X 4.6mm) e um sistema binário com duas fases móveis: fase móvel A e fase móvel B (a fase móvel A é composta por 10 mL de tampão fosfato de sódio, 90 mL de água milli-Q e 400mL de metanol e a fase móvel B é composta por 80 mL do tampão fosfato de sódio, 720 mL de água milli-Q e 200 mL de metanol). Primeiramente, realizou-se a desproteinização da amostra, adicionando 50µL de plasma em eppendorf e 200µL de metanol para a precipitação das proteínas. Em seguida, realizou-se a centrifugação por 10 min a 2000 rpm, a fim de separar o sobrenadante (material de análise). Após a separação do material de análise, foi adicionado em um tubo de ensaio (12x75): 10µL de PI (padrão interno de ácido homocistéico), 40µL da amostra de plasma desproteinizada, 50µL de mercaptoetanol 4% e 200µL de ortophtaldialdeído para a derivatização da amostra. Na sequência, 20µL da amostra foram injetadas no equipamento de CLAE com detector de fluorescência para posterior análise em software Class-VP [13].

### **Dosagem de homocisteína por Espectrometria de Massas em Tandem**

Os níveis de homocisteína foram analisados por HPLC (Alliance Waters 2695) acoplado a Espectrômetro de Massas em Tandem (MS/MS Micromass Quattro Micro™ API - Perkin Elmer), utilizando-se uma pré-coluna (LC-CN, 5µm, 2cm x 4mm) e uma coluna cromatográfica (LC-CN, 3,3 cm x 4,6 mm, 3µm). Primeiramente, foi realizada a centrifugação do pool de plasmas de indivíduos saudáveis e da amostra de plasma do paciente por 5 minutos a 3000 rpm. Foi preparada uma curva de calibração, onde adicionou-se 50µL do pool de plasmas e 50µL da solução padrão (solução D,L-Homocisteína) em diferentes concentrações (2,5µmol/L, 5µmol/L, 10µmol/L, 20µmol/L e 50µmol/L), totalizando 5 pontos na curva. Já na análise de plasma do paciente, adicionou-se 50µL do pool de plasmas e 50µL de amostra. Na sequência, tanto na curva de calibração como na amostra do paciente, adicionou-se 20µL de solução homocistina-d8 (PI) (2 nanomoles) e 20µL de ditioneitol 500 mM (solução redutora). Após 15 minutos em temperatura ambiente, adicionou-se 200µL de solução desproteinizante (proporção de acetonitrila, ácido fórmico e ácido trifluoroacético). Foi realizada a centrifugação por 2 minutos a 13000 rpm (temperatura ambiente) e transferiu-se 100µL de sobrenadante a um vial de injeção.

Por fim, 1µL foi injetado no LC/MS/MS através de um autosampler mantido a 4°C. A quantificação foi então realizada pelo equipamento por diluição isotópica, onde um padrão interno isotópico com concentração conhecida (homocistina-d8 - diferindo apenas no número de nêutrons) é introduzido no início do processo analítico. Como o padrão interno é quimicamente idêntico à substância a ser medida, a intensidade da sua relação massa/carga é utilizada para calcular a concentração de homocisteína na amostra do paciente [14-17].

### **Análise estatística**

Os resultados obtidos neste estudo foram analisados através do programa GraphPad Prism Software, versão 5.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, Califórnia). A comparação entre os valores do diagnóstico e dos tratamentos foi realizada pelo teste de Friedman. Valores de  $p < 0,05$  foram considerados significativos.

## **RESULTADOS**

Mediante à análise dos prontuários, foram selecionados 17 pacientes para avaliação dos dados clínicos (tabela 1). Destes 17 pacientes, 64,7% eram provenientes da Rede EIM/SGM-HCPA e os outros 35,3% provenientes do ambulatório do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Dentre os 17 pacientes estudados, 9 (53%) eram representados pelo sexo masculino e 8 (47%) representados pelo sexo feminino. A idade média dos pacientes no momento do diagnóstico foi de 14,6 anos. No que concerne ao histórico familiar, foi observado consanguinidade entre os pais de um paciente, e um outro apresentou histórico familiar prévio de um primo diagnosticado com HCU aos 9 anos de idade.

Em relação aos sinais e sintomas clínicos (tabela 2), 11 pacientes (64,7%) apresentavam luxação do cristalino (*ectopia lentis*) como principal manifestação clínica. Os outros sintomas mais frequentemente observados foram hábito marfanóide (35,3%), seguido por déficit cognitivo (29,4%), retardo neuropsicomotor (29,4%), alta estatura (23,5%), dismorfias (17,6%), escoliose (17,6%), miopia (17,6%), convulsões (11,8%), trombose (5,9%), dolicoostenomelia (5,9%), aracnodactilia (5,9%), polidactilia (5,9%), macrocefalia (5,9%), baixa estatura (5,9%) e acidente vascular cerebral (AVC) (5,9%). Entretanto, 5 pacientes (29,4%)

demonstraram outros tipos de distúrbios oculares (perda visual por glaucoma, deslocamento da retina secundário, perda de acuidade visual e estrabismo) e 2 pacientes (11,8%) demonstraram outros tipos de distúrbios ósseos (fragilidade óssea e dedos alongados). Além disso, apenas 1 paciente (5,9%) se apresentou assintomático no momento do diagnóstico.

No que se refere ao tratamento farmacológico (tabela 3), 15 pacientes (88,2%) estavam em uso de ácido fólico, 14 pacientes (82,3%) em uso de piridoxina (vitamina B6), 12 pacientes (70,6%) em uso de betaína, 7 pacientes (41,2%) em uso de vitamina B12, 4 pacientes (23,5%) em uso de ácido acetilsalicílico, 2 pacientes (11,8%) em uso de psicotrópicos (risperidona, ácido valpróico e carbamazepina), 1 paciente (5,9%) em uso de vitamina C, 1 paciente (5,9%) em uso de calcitriol, 1 paciente (5,9%) em uso de carbonato de cálcio, 1 paciente (5,9%) em uso de rivaroxabana e 1 paciente (5,9%) em uso de sulfato ferroso. Quanto ao tratamento dietético, 7 pacientes (41,2%) estavam em dieta hipoproteica com restrição de metionina, sendo que 1 paciente (5,9%) estava em uso da Fórmula Metabólica Isenta de Metionina (FMIM). Além disso, 10 pacientes (58,8%) não apresentavam informações referentes ao tratamento dietético ou não haviam assumido nenhuma dieta específica.

As tabelas 4 e 5 ilustram os valores de tHcy e metionina em  $\mu\text{mol/L}$  no plasma dos 17 pacientes no momento do diagnóstico e ao longo do tratamento em três momentos distintos. A análise estatística comparou o momento do diagnóstico com dois momentos de tratamento (com diferença de cerca de um ano entre cada um) tanto para homocisteína quanto para metionina. A análise do perfil de tHcy, demonstrou que não houve diminuição significativa entre o diagnóstico e o momento 2, mas houve diminuição significativa entre o diagnóstico e o momento 3 (figura 2A) ( $f = 6,615$ ,  $p = 0,0366$ ). No que diz respeito aos níveis de metionina, houve diminuição significativa tanto entre o diagnóstico e o momento 2, quanto entre o diagnóstico e o momento 3 (figura 2B) ( $f = 10,96$ ,  $p = 0,0042$ ).

## DISCUSSÃO

O presente estudo abrangeu 17 casos de Homocistinúria diagnosticados no SGM/HCPA, que é um centro de referência do Brasil que realiza o diagnóstico de pacientes de diferentes regiões do país. Estudos abordando o perfil de pacientes homocistinúricos brasileiros ainda são muito escassos, havendo poucas informações relacionando os achados bioquímicos dos níveis de tHcy e metionina ao longo do tempo com os tratamentos farmacológicos e dietéticos mais utilizados na prática clínica, o que é de extrema relevância para contribuir com o manejo terapêutico e precoce destes pacientes.

Assim, no período estudado, a idade média encontrada em levantamento junto ao SGM/HCPA no momento do diagnóstico foi de 14,6 anos, o que demonstra que o diagnóstico foi realizado bastante tardiamente. Este achado corrobora com dados que demonstram que o diagnóstico e o manejo da HCU ainda são um grande desafio nos países em desenvolvimento onde a triagem neonatal não está disponível para esta doença e o acesso aos serviços de saúde é muitas vezes precário e desigual [7]. No Brasil, a doença não está incluída no Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN), o que dificulta o levantamento da prevalência desta mesma, bem como o diagnóstico precoce. A falta de rastreamento prematuro da doença impacta diretamente na qualidade de vida do paciente, uma vez que acarreta o início do tratamento quando o paciente já se encontra em uma fase da doença com diversas manifestações clínicas. Em 26 de maio de 2021, foi sancionada a Lei Federal nº 14.154, que altera a Lei nº 8.069, de 13 de julho de 1990 - Estatuto da Criança e do Adolescente (ECA), para aperfeiçoar o PNTN, por meio do estabelecimento de rol mínimo de doenças a serem rastreadas pelo teste do pezinho, a qual amplia o número de doenças triadas podendo detectar até 50 doenças. Sendo assim, o PNTN está em processo de ampliação da triagem neonatal no Sistema Único de saúde (SUS) com implementação de forma escalonada. Em um futuro bem próximo, será possível a triagem de distúrbios na  $\beta$ -oxidação mitocondrial de ácidos graxos, de acidemias orgânicas e de aminoacidopatias, dentre as quais encontra-se a HCU, o que irá possibilitar o tratamento precoce desta doença [18].

Os distúrbios clínicos mais frequentemente observados nos pacientes acometidos por HCU são: luxação do cristalino (*ectopia lentis*), tromboembolismo, retardo mental, distúrbios psiquiátricos, osteoporose e características marfanóides [7]. Um

estudo apresentou o perfil clínico de 629 pacientes homocistinúricos, onde demonstraram que 21% dos pacientes foram investigados inicialmente apenas por causa da luxação do cristalino [19]. Outro estudo revelou que o primeiro sintoma percebido pelos familiares e/ou médicos foi deficiência visual (principalmente devido à luxação do cristalino) em 53% dos casos estudados [7]. Estes dados corroboram com o presente estudo, uma vez que 11 pacientes (64,7%) apresentaram luxação do cristalino como a principal manifestação clínica presente no momento do diagnóstico.

O manejo terapêutico estabelecido para a HCU engloba a suplementação de piridoxina, ácido fólico/folínico, betaína e uma dieta com restrição de metionina suplementada com uma mistura de aminoácidos essenciais livre de metionina [5]. No presente estudo, 15 pacientes (88,2%) estavam em uso de ácido fólico, 14 pacientes (82,3%) em uso de piridoxina (vitamina B6), 12 pacientes (70,6%) em uso de betaína, 7 pacientes (41,2%) em uso de vitamina B12 e 4 pacientes (23,5%) em uso de ácido acetilsalicílico. Um dos principais tratamentos é a suplementação com piridoxina que é um cofator da enzima CBS e desempenha um papel importante na regulação da atividade enzimática. Nem todos os pacientes atingem resultados satisfatórios nos níveis de tHcy com a suplementação de piridoxina, uma vez que o tratamento é limitado a indivíduos responsivos à piridoxina. Já a betaína juntamente com o ácido fólico é administrada a pacientes que não respondem à piridoxina. A betaína é um doador de metila que atua na via alternativa de remetilação para converter a homocisteína acumulada em metionina. A vitamina B12 e o folato ajudam a aumentar a conversão de homocisteína em metionina pela metionina sintase, aumentando sua atividade e, assim, diminuindo o nível sérico de homocisteína [19]. Além disso, uma das características principais da doença é o alto risco de eventos tromboembólicos ao longo da vida, apresentando a chance de 50% de ocorrência de um evento até os 29 anos de idade [20]. Devido a isso, o ácido acetilsalicílico deve ser utilizado para prevenção do tromboembolismo em pacientes com HCU, principalmente nos que apresentaram evento prévio [5].

No que se refere ao tratamento dietético dos pacientes HCU aqui estudados, foram observados que 7 pacientes (41,2%) estavam em dieta hipoproteica com restrição de metionina, sendo que 1 paciente (5,9%) estava em uso da FMIM. A fórmula metabólica é essencial para o tratamento da doença, pois é isenta de

metionina e é composta por aminoácidos essenciais e não essenciais, enriquecida de vitaminas e minerais. A reposição permite que o paciente mantenha o desenvolvimento somático e neurológico de forma satisfatória [21].

As tabelas 4 e 5 apresenta o perfil plasmático de aminoácidos (tHcy e metionina) dos pacientes homocistinúricos no diagnóstico e em três momentos distintos do tratamento atribuído a cada caso. Com estes resultados foi possível observar que a maioria dos pacientes tiveram os níveis de homocisteína reduzidos quando se observa o diagnóstico e a terceira monitorização após o tratamento instituído. Apesar disto, durante a monitorização dos outros momentos do tratamento os níveis plasmáticos demonstraram-se bastante elevados, o que pode indicar uma baixa adesão ao tratamento. Além disso, apenas 3 pacientes haviam atingido o objetivo terapêutico proposto e apresentavam níveis plasmáticos de homocisteína no terceiro tratamento abaixo de 50  $\mu\text{mol/L}$ . Já os níveis plasmáticos de metionina foram decaindo durante o tratamento, principalmente nos pacientes que mantiveram os níveis plasmáticos de homocisteína reduzidos ao longo do tratamento. Poloni et al. apresentaram dados clínicos e bioquímicos de 44 pacientes homocistinúricos em tratamento. Neste estudo, observou-se uma diferença no controle metabólico entre os grupos: pacientes responsivos à piridoxina apresentaram níveis baixos e quase normais de homocisteína e metionina, enquanto a maioria dos pacientes não responsivos continuaram apresentando níveis altos de homocisteína ( $>100 \mu\text{mol/L}$ ). A dificuldade para atingir o objetivo terapêutico dos níveis plasmáticos de tHcy geralmente é encontrada em pacientes não responsivos à piridoxina. Entretanto, para os pacientes não responsivos à piridoxina, o tratamento mais frequentemente utilizado é a restrição de metionina associada à FMIM. Porém, a prescrição da FMIM é variável conforme a idade, peso do paciente e o controle metabólico [20]. Devido a isso, os níveis não controlados de tHcy nesses pacientes podem ser devido a baixa adesão ao tratamento e a restrição alimentar de metionina, principalmente em pacientes com diagnóstico tardio, além do escasso treinamento de profissionais de saúde em prescrição dietética relacionado a doenças metabólicas [7]. Além disso, outro motivo que dificulta o controle metabólico desses pacientes é o alto custo da FMIM, o que impede o acesso ao público de baixa renda, além de não estar incluída na Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME). A FMIM deve ser

solicitada através da judicialização da saúde, uma vez que a HCU não faz parte do Teste do Pezinho do SUS no Brasil [21-23].

A figura 2 apresenta o perfil de aminoácidos [tHcy (A) e metionina (B)] em plasma de pacientes homocistinúricos no diagnóstico (1) e em dois momentos distintos do tratamento (2 e 3), comparados através do teste estatístico. Os níveis de tHcy em comparação ao terceiro momento de tratamento (3) foram significativos, demonstrando que o tratamento de certa forma foi eficaz na redução desses níveis, apesar de não se ter atingido a normalidade ( $<15 \mu\text{mol/L}$ ) e objetivo terapêutico ( $<50 \mu\text{mol/L}$ ). Ademais, no que se refere aos níveis de metionina, observou-se uma redução significativa e evidente entre o diagnóstico e o segundo momento de tratamento (2), e entre o diagnóstico e o terceiro momento de tratamento (3), porém mesmo assim não se atingiu a normalidade dos níveis plasmáticos ( $<42 \mu\text{mol/L}$ ).

Os achados bioquímicos encontrados no presente estudo podem ser correlacionados com a idade e adesão ao tratamento. Estudos já demonstraram que os pacientes mais velhos possuem dificuldade para alcançar a adesão à dieta hipoproteica, considerando que o indivíduo já tenha sido exposto a alimentos proteicos normais durante a infância, tornando cada vez mais difícil para os pacientes permanecerem aderentes na fase adulta. A alta adesão é de extrema importância e foi significativamente relacionada a níveis mais baixos de tHcy [24]. Vale ressaltar também que alguns pacientes mesmo com excelente adesão ao tratamento não conseguem normalizar os níveis de tHcy, pois mesmo que a dieta restritiva diminua os níveis de tHcy em pacientes em graus variados das manifestações clínicas, muitos pacientes nunca atingem a normalização [5,24,25].

Ainda assim, o tratamento deve ser continuado ao longo da vida, uma vez que períodos de mau controle metabólico levam a efeitos tóxicos cumulativos da tHcy que podem levar a complicações ainda mais graves. No entanto, o cumprimento da dieta é muitas vezes complicado por causa das complexidades e restrições. A adesão geralmente decai durante a adolescência e a idade adulta, e pode ser particularmente desafiador para pacientes com diagnóstico tardio [26-29].

Finalmente, podemos especular que o diagnóstico tardio pode ser relacionado com os achados bioquímicos presentes neste estudo. Os resultados deste estudo contribuem para uma melhor compreensão do perfil de pacientes brasileiros com

HCU e ressalta a importância do treinamento dos profissionais de saúde quanto aos tratamentos propostos, além da necessidade e urgência da busca por novas terapias que forneçam a normalização bioquímica dos níveis de tHcy precocemente. Além disso, este trabalho ressalta a importância da inclusão desta doença no Teste do Pezinho do Brasil, assim como a implementação das terapias atualmente utilizadas para o tratamento da HCU no SUS. Em suma, o diagnóstico tardio pode gerar consequências severas e somente a implementação de políticas públicas como a identificação precoce da doença e o início imediato do tratamento podem gerar uma melhor qualidade de vida para estes pacientes.

### **CONFLITOS DE INTERESSE**

Os autores declaram não ter conflito de interesse.

### **CONSENTIMENTO**

Todos os procedimentos foram guiados de acordo com as normas éticas do comitê responsável em experimentação humana (institucional e nacional) e com a Declaração de Helsinki de 1975, revisada em 2000. O estudo foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa do HCPA (n° 2008-0322).

### **RECONHECIMENTOS**

Este estudo foi financiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS) e Fundo de Incentivo à Pesquisa e Eventos (FIPE/HCPA). Agradecemos aos pacientes, seus familiares, aos médicos e à equipe do SGM/HCPA, bem como da REDE-EIM BRASIL pelo apoio a este estudo.

## REFERÊNCIAS

- [1] Scriver R, Beaudet A, Sly ES, Valle D. The metabolic and molecular bases of inherited disease. 8th ed. New York: McGraw-Hill; 2001.
- [2] Mudd SH, Levy HL, Kraus JP. Disorders of transsulfuration. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D (eds). The metabolic and molecular basis of inherited disease, 8th edn. McGraw-Hill, New York, pp 2007–2056, 2001.
- [3] Vanzin CS, Mescka CP, Donida B, Hammerschmidt TG, Ribas GS, Kolling J, Scherer EB, Vilarinho L, Nogueira C, Coitinho AS. Lipid, Oxidative and Inflammatory Profile and Alterations in the Enzymes Paraoxonase and Butyrylcholinesterase in Plasma of Patients with Homocystinuria Due CBS Deficiency: the vitamin b12 and folic acid importance. Cellular And Molecular Neurobiology, [S.L.], v. 35, n. 6, p. 899-911, 2015.
- [4] Marcão A, Couce ML, Nogueira C, Fonseca H, Ferreira F, Fraga JM, Bóveda MD, Vilarinho L. Newborn Screening for Homocystinuria Revealed a High Frequency of MAT I/III Deficiency in Iberian Peninsula. JIMD Rep. 2015;20:113-20.
- [5] Morris AA, Kožich V, Santra S, Andria G, Ben-Omran TI, Chakrapani AB, et al. Guidelines for the diagnosis and management of cystathionine beta-synthase deficiency. J Inherit Metab Dis. 2017;40(1):49-74.
- [6] Garland J, Prasad A, Vardy C, Prasad C. Homocystinuria: Challenges in diagnosis and management. Paediatr Child Health. 1999;4(8):557-62.
- [7] Poloni S, Hoss GW, Sperb-Ludwig, F, Borsatto T, Doriqui MJ, Leão EK, Boa-Sorte N, Lourenço CM, Kim CA, Souza CF. Diagnosis and Management of Classical Homocystinuria in Brazil. Journal Of Inborn Errors Of Metabolism And Screening, [S.L.], v. 6, p. 232640981878890, 2018.
- [8] Vanzin CS, Biancini GB, Sitta A, Wayhs CAY, Pereira IN, Rockenbach F, Garcia SC, Wyse AT, Schwartz IVD, Wajner M. Experimental evidence of oxidative stress in plasma of homocystinuric patients: a possible role for homocysteine. Molecular Genetics And Metabolism, [S.L.], v. 104, n. 1-2, p. 112-117, 2011.
- [9] Vanzin CS, Manfredini V, Marinho AE, Biancini GB, Ribas GS, Deon M et al. Homocysteine contribution to DNA damage in cystathionine b-synthase-deficient patients. Gene. 2014;539(2): 270–274.
- [10] Faverzani JL, Hammerschmidt TG, Sitta A, Deon M, Wajner M, Vargas CR. Oxidative Stress in Homocystinuria Due to Cystathionine  $\beta$ -Synthase Deficiency: findings in patients and in animal models. Cellular And Molecular Neurobiology, [S.L.], v. 37, n. 8, p. 1477-1485, 2017.
- [11] Wilcken DEL, Wilcken B. The natural history of vascular disease in homocystinuria and effects of treatment. J Inherit Metab Dis. 1997;20(2):295–300.
- [12] Rao TN, Radhakrishna K, Mohana Rao TS, Guruprasad P, Ahmed K. Homocystinuria due to cystathionine beta synthase deficiency. Indian J Dermatol Venereol Leprol. 2008;74(4):375–378.

- [13] Bremer HJ, Duran M, Kamerling JP, Przyrembel H, Wadman SK. Disturbances of amino acid metabolism: clinical chemistry and diagnosis. Urban & Schwarzenberg, Baltimore, 1981.
- [14] Magera M, Lacey J, Casetta B, Rinaldo P. Method for the determination of total homocysteine in plasma and urine by stable isotope dilution and electrospray tandem mass spectrometry. *Clin Chem.* 1999;45: 1517-1522.
- [15] Nelson B, Pfeiffer C, Sniegosky L, Satterfield M. Development and evaluation of an isotope dilution LC/MS method for the determination of total homocysteine in human plasma. *Anal Chem.* 2003;75:775-784.
- [16] Kuhn J, Gotting C, Kleesiek K. Rapid micro-scale assay for homocysteine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Clin Biochem.* 2006;39:164-166.
- [17] Tuschl K, Bodamer OA, Erwa W, Muhl A. Rapid analysis of total plasma homocysteine by tandem mass spectrometry. *Clin. Chim. Acta.* 2005;351: 139-141.
- [18] BRASIL. Lei Nº 14.154, DE 26 DE MAIO DE 2021. Ed. Brasília, Brasil, Disponível em: <http://www.in.gov.br/web/dou/-/lei-n-14.154-de-26-de-maio-de-2021-322209993>. Acesso em: 15 Set. 2022.
- [19] Mudd SH, Skovby F, Levy HL, Pettigrew KD, Wilcken B, Pyeritz RE et al. The natural history of homocystinuria due to cystathionine beta-synthase deficiency. *Am J Hum Genet.* 1985;37(1):1–31.
- [20] Tarun Kumar, Gurumayum Suraj Sharma, Laishram Rajendrakumar Singh. Homocystinuria: Therapeutic approach. *Clinica Chimica Acta.* v. 458, p. 55-62, 2016.
- [21] Ministério da Saúde. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas da Homocistinúria Clássica. Portaria Conjunta SAES/SCTIE nº 3, de 17 de janeiro de 2020.
- [22] Chieffi AL, Barradas RDCB, Golbaum M. Acesso legal a medicamentos: uma ameaça ao sistema público de saúde do Brasil?. *BMC Health Serv Res.* v. 17, p. 499, 2017.
- [23] Ministério da Saúde, CONITEC. Fórmula metabólica isenta de metionina para homocistinúria clássica. 2018.
- [24] Al-Dewik N, Ali A, Mahmoud Y, Shahbeck N, Ali R, Mahmoud L, Al-Mureikhi M, Al-Mesaifri F, Musa S, El-Akouri K, Almulla M, Al Saadi R, Nasrallah GK, Samara M, Abdoh G, Rifai HA, Häberle J, Thöny B, Kruger W, Blom HJ, Ben-Omran T. Natural history, with clinical, biochemical, and molecular characterization of classical homocystinuria in the Qatari population. *J Inherit Metab Dis.* 2019;42(5):818-830.
- [25] Purcell O, Coughlan A, Grant T, McNulty J, Clark A, Devereil D, et al. Growth Patterns in the Irish Pyridoxine Nonresponsive Homocystinuria Population and the Influence of Metabolic Control and Protein Intake. *J Nutr Metab.* 2017;2017:8570469.
- [26] Adam S, Almeida MF, Carbasius Weber E, et al. Dietary practices in pyridoxine non-responsive homocystinuria: a European survey. *Mol Genet Metab.* 2013;110(4):454-459.

[27] Schiff M, Blom HJ. Treatment of inherited homocystinurias. *Neuropediatrics*. 2012;43(6):295-304.

[28] Walter JH, Wraith JE, White FJ, Bridge C, Till J. Strategies for the treatment of cystathionine beta-synthase deficiency: the experience of the Willink biochemical genetics unit over the past 30 years. *Eur J Pediatr*. 1998;157(Suppl 2): S71-S76.

[29] Zschocke J, Kebbewar M, Gan-Schreier H, et al. Triagem neonatal molecular para homocistinúria na população do Catar. *Hum Mutante*. 2009;30(6):1021-1022.

## ANEXO 1

### TABELAS E FIGURAS

**Tabela 1.** Idade, sexo e histórico familiar dos pacientes portadores de HCU.

---

<b>Paciente</b>	<b>Sexo</b>	<b>Idade no diagnóstico (anos)</b>	<b>Histórico familiar</b>
1	F	27	Não
2	M	14	Não
3	M	13	Não
4	M	13	Não
5	M	13	Não
6	M	24	Não
7	F	10	Não
8	M	4	Irmão de 9 anos com diagnóstico prévio
9	F	20	Não
10	M	4	Não
11	M	55	Não
12	F	3	Pais consanguíneos
13	F	7	Não
14	F	17	Não
15	M	9	Não
16	F	10	Não
17	F	6	Não

---

**Tabela 2.** Distribuição dos sinais e sintomas encontrados no momento do diagnóstico em pacientes com HCU.

<b>Sinais e sintomas</b>	<b>Pacientes (%)</b>
Luxação do cristalino ( <i>ectopia lentis</i> )	11 (64,7%)
Hábito marfanóide	6 (35,3%)
Déficit cognitivo	5 (29,4%)
Retardo neuropsicomotor	5 (29,4%)
Alta estatura	4 (23,5%)
Dismorfias	3 (17,6%)
Escoliose	3 (17,6%)
Miopia	3 (17,6%)
Convulsões	2 (11,8%)
Trombose	1 (5,9%)
Dolicostenomelia	1 (5,9%)
Aracnodactilia	1 (5,9%)
Polidactilia	1 (5,9%)
Macrocefalia	1 (5,9%)
Baixa estatura	1 (5,9%)
Acidente vascular cerebral (AVC)	1 (5,9%)
Assintomático	1 (5,9%)
Outros distúrbios oculares (perda visual por glaucoma, deslocamento da retina secundário, perda de acuidade visual e estrabismo)	5 (29,4%)
Outros distúrbios ósseos (fragilidade óssea e dedos alongados)	2 (11,8%)

**Tabela 3.** Distribuição do tratamento farmacológico e dietético dos pacientes com HCU.

<b>Tratamento farmacológico</b>	<b>Pacientes (%)</b>
Ácido fólico	15 (88,2%)
Piridoxina (vitamina B6)	14 (82,3%)
Betaína	12 (70,6%)
Vitamina B12	7 (41,2%)
Ácido acetilsalicílico	4 (23,5%)
Psicotrópicos (risperidona, ácido valpróico e carbamazepina)	2 (11,8%)
Vitamina C	1 (5,9%)
Calcitriol	1 (5,9%)
Carbonato de cálcio	1 (5,9%)
Rivaroxabana	1 (5,9%)
Sulfato ferroso	1 (5,9%)
<b>Tratamento dietético</b>	<b>Pacientes (%)</b>
Dieta hipoproteica com restrição de metionina	7 (41,2%)
Fórmula isenta de metionina	1 (5,9%)
Dieta não informada	10 (58,8%)

**Tabela 4.** Perfil plasmático de tHcy em  $\mu\text{mol/L}$  dos pacientes homocistinúricos no diagnóstico e em três momentos distintos do tratamento.

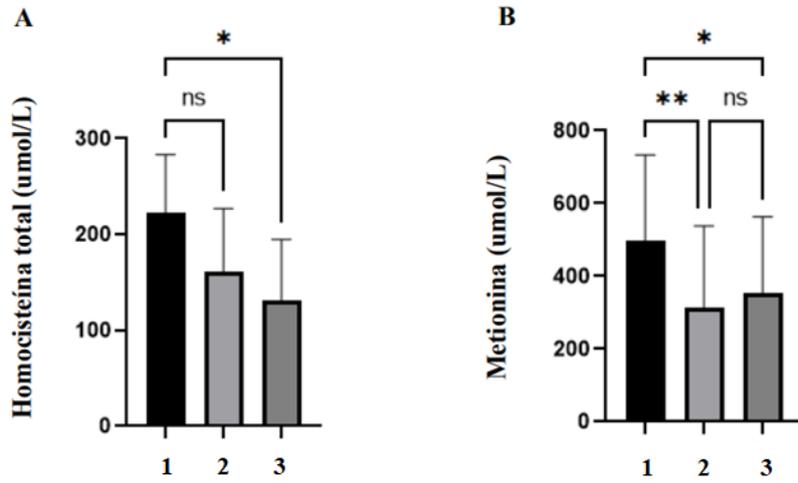
	Diagnóstico	Momento de tratamento 1	Momento de tratamento 2	Momento de tratamento 3
1	245,7	17	43	21
2	393,7	390,9	128	NI
3	348,8	109,9	203	57,1
4	58,2	222,4	22,0	NI
5	334,1	124,7	NI	NI
6	141,0	99,5	63,1	58,4
7	227,07	204,8	342	29,5
8	192,6	134,7	59,2	189,2
9	142	261,2	253,2	135,5
10	184,6	7,8	51,0	6,9
11	150,3	229,35	29,7	33,9
12	201,07	94,7	67,6	112,4
13	160,73	226,7	NI	NI
14	381,73	85,9	220,8	136,2
15	228,6	111	NI	NI
16	160,15	164	NI	NI
17	233	241,1	227,1	NI

NI = Não Informado

**Tabela 5.** Perfil plasmático de metionina em  $\mu\text{mol/L}$  dos pacientes homocistinúricos no diagnóstico e em três momentos distintos do tratamento.

	Diagnóstico	Momento de tratamento 1	Momento de tratamento 2	Momento de tratamento 3
1	230,5	69,2	29,6	56,7
2	599,3	392,6	546,7	NI
3	1036,3	1036,3	881,8	66,1
4	50,2	98,3	NI	NI
5	407,2	NI	NI	NI
6	69,7	32,9	45,2	NI
7	982,5	151,9	602,3	13,4
8	244,1	54,7	254,2	47
9	744,3	448,8	218,5	515
10	55,2	22,9	35,6	14,3
11	69,3	29,4	22,6	NI
12	393,8	63,3	112,5	281,9
13	804,1	466,9	NI	NI
14	914,3	819,2	630,4	186,6
15	81	94	NI	NI
16	893,6	662,5	NI	NI
17	644,4	644,4	856,8	NI

NI = Não Informado



**Figura 2.** Perfil de aminoácidos [tHcy (A) e metionina (B)] em plasma de pacientes homocistinúricos ao diagnóstico (1) e em dois momentos do tratamento (2 e 3). Os dados representam \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$  (teste de Friedman não-paramétrico).

## **ANEXO 2**

### **NORMAS DA REVISTA**

#### **Escopo e política**

A Clinical and Biomedical Research (CBR), antiga Revista HCPA, é uma publicação científica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) e da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (FAMED/UFRGS). É um periódico científico de acesso livre que tem a finalidade de publicar trabalhos de todas as áreas relevantes das Ciências da Saúde, incluindo pesquisa clínica e básica. Os critérios de seleção para publicação incluem: originalidade, relevância do tema, qualidade metodológica e adequação às normas editoriais da revista. A CBR apoia as políticas para registro de ensaios clínicos da Organização Mundial da Saúde (OMS) [<http://www.who.int/ictrp/en/>] e do International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) [[http://www.icmje.org/clin\\_trial.pdf](http://www.icmje.org/clin_trial.pdf)]. Sendo assim, somente serão aceitos para publicação os artigos de pesquisas clínicas que tenham recebido número de identificação do Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos (ReBEC) <http://www.ensaiosclinicos.gov.br> ou de outro banco de dados oficial dedicados ao registro de ensaios clínicos. Todos os artigos publicados são revisados por pares anônimos. Uma vez que o artigo seja aceito para publicação, os seus direitos autorais são automaticamente transferidos para a revista. O conteúdo do material enviado para publicação na CBR implica que o mesmo não tenha sido publicado e não esteja submetido a outra revista. Artigos publicados na CBR, para serem publicados em outras revistas, ainda que parcialmente, necessitarão de aprovação por escrito dos editores. Os conceitos e declarações contidos nos trabalhos são de total responsabilidade dos autores. Os artigos podem ser redigidos em português, inglês ou espanhol. As submissões em inglês são fortemente encorajadas pelos editores. O manuscrito deve enquadrar-se em uma das diferentes categorias de artigos publicados pela revista, conforme a seguir:

#### **Forma e preparação de artigos**

SERÃO CONSIDERADOS PARA PUBLICAÇÃO:

## Editorial

Comentário crítico e aprofundado, preparado a convite dos editores e submetido por pessoa com notório saber sobre o assunto abordado. Os editoriais podem conter até 1000 palavras. Esta seção pode incluir o editorial de apresentação da Revista, assinado pelo Editor, além de editoriais especiais, que compreendem colaborações solicitadas sobre temas atuais ou artigos publicados na Revista.

## Artigos de Revisão

Artigos que objetivam sintetizar e avaliar criticamente os conhecimentos disponíveis sobre determinado tema. Devem conter até 6.000 palavras. Esses artigos devem apresentar resumo, não estruturado com número não superior a 200 palavras (exceto revisões sistemáticas – ver estrutura de resumo em ‘Artigos Originais’) e uma lista abrangente, mas preferencialmente não superior a 80 referências. Tabelas devem ser incluídas no mesmo arquivo do manuscrito (após as referências) e as figuras devem ser enviadas como documento suplementar em arquivos individuais.

## Artigos Especiais

Manuscritos exclusivamente solicitados pelos editores, sobre tema de relevância científica, a autores com reconhecida expertise na área e que não se enquadrem nos critérios de Editorial.

## Artigos Originais

Artigos com resultados inéditos de pesquisa, constituindo trabalhos completos que contêm todas as informações relevantes que o leitor possa avaliar seus resultados e conclusões, bem como replicar a pesquisa. A sua estrutura de texto deve apresentar os tópicos: Introdução, Métodos, Resultados e Discussão. A(s) conclusão(ões) deve(m) estar no último parágrafo da Discussão, não sendo necessária uma seção específica. Implicações clínicas e limitações do estudo devem ser apontadas. Para os artigos originais, deve-se apresentar um resumo estruturado (Introdução, Métodos, Resultados e Conclusões), caso o artigo for escrito no idioma português, deverá apresentar também o resumo e título em inglês. O Resumo e o Abstract não devem exceder 250 palavras. Os artigos submetidos nesta categoria não devem exceder 3.000 palavras. Tabelas devem ser incluídas no mesmo arquivo do

manuscrito (após as referências) e as figuras devem ser enviadas como documentos suplementares em arquivos individuais.

### Relatos de Caso

São artigos baseados em casos peculiares e comentários sucintos sobre a importância do caso em relação ao conhecimento atual na área. Devem conter até 1.000 palavras, com um total de, no máximo, duas tabelas ou figuras e 15 referências, já que o objetivo dos relatos não é apresentar uma revisão bibliográfica. A sua estrutura deve apresentar os seguintes tópicos: Introdução, explicando a relevância do caso; Apresentação do caso (Relato do Caso) e Discussão. Os relatos de casos devem descrever achados novos ou pouco usuais, ou oferecer novas percepções sobre um problema estabelecido. O conteúdo deve limitar-se a fatos pertinentes aos casos. O sigilo em relação à identificação dos pacientes é fundamental, não devendo ser relatadas datas precisas, iniciais ou qualquer outra informação não relevante ao caso, mas que eventualmente possa identificar o paciente. Os Relatos de Caso devem ter um resumo não estruturado com no máximo 150 palavras. Tabelas devem ser incluídas no mesmo arquivo do manuscrito (após as referências) e as figuras devem ser enviadas como documentos suplementares em arquivos individuais.

### Relatos de Casos: Imagens em Medicina

Seção destinada à publicação de Imagens elucidativas, não usuais e/ou de amplo interesse de situações médicas. Deve conter até 500 palavras e um total de cinco referências. Duas a três imagens (resolução mínima de 300 dpi).

### Cartas

Opiniões e comentários sobre artigo publicado na Revista, sobre temas de relevância científica e/ou observações clínicas preliminares. O texto deve ser breve com, no máximo, 500 palavras. Apenas uma tabela e uma figura são permitidas e, no máximo, cinco referências. Não devem ter resumo.

### Comunicações Breves

Comunicações breves são resultados preliminares de pesquisas originais ou estudos mais pontuais que contêm todas as informações relevantes para que o leitor possa

avaliar os seus resultados e conclusões, bem como replicar a pesquisa. A estrutura é semelhante a artigos originais; no entanto, o resumo (Português, Espanhol, ou Inglês) não deve exceder 150 palavras e o texto não deve exceder 1.200 palavras. Ter no máximo duas Tabelas ou Figuras.

#### Suplementos

Além dos números regulares, a CBR publica o suplemento da Semana Científica do HCPA.

### **CONFLITOS DE INTERESSE**

Conflitos de interesse surgem quando o autor tem relações pessoais ou financeiras que influenciam seu julgamento. Estas relações podem criar tendências favoráveis ou desfavoráveis a um trabalho e prejudicar a objetividade da análise. Os autores devem informar sobre possíveis conflitos de interesse na ocasião do envio do manuscrito. Cabe ao editor decidir se esta informação deve ou não ser publicada e usá-la para tomar decisões editoriais. Uma forma comum de conflito de interesse é o financiamento de trabalhos de pesquisa por terceiros, que podem ser empresas, órgãos públicos ou outros. Esta obrigação para com a entidade financiadora pode levar o pesquisador a obter resultados que a satisfaçam, tornando o estudo tendencioso. Autores devem descrever a interferência do financiador em qualquer etapa do estudo, bem como a forma de financiamento e o tipo de relacionamento estabelecido entre patrocinador e autor. Os autores podem optar por informar nomes de pareceristas para os quais seu artigo não deva ser enviado, justificando-se.

### **PRIVACIDADE E CONFIDENCIALIDADE**

Informações e imagens de pacientes que permitam sua identificação só devem ser publicadas com autorização formal e por escrito do paciente, e apenas quando necessárias ao objetivo do estudo. Para a autorização formal, o paciente deve conhecer o conteúdo do artigo e ter ciência de que este artigo poderá ser disponibilizado na internet. Em caso de dúvida sobre a possibilidade de identificação de um paciente, como fotos com tarjas sobre os olhos, deve ser obtida a autorização formal. No caso de distorção de dados para evitar identificação, autores e editores

devem assegurar-se de que tais distorções não comprometam os resultados do estudo.

## **EXPERIÊNCIAS COM SERES HUMANOS E ANIMAIS**

Toda matéria relacionada com pesquisa em seres humanos e pesquisa em animais deve ter aprovação prévia de Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) ou Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), respectivamente. Os trabalhos deverão estar de acordo com as recomendações da Declaração de Helsinque (vigente ou atualizada), das Resoluções CNS 466/2012 e complementares e da Lei 11.794/2008 para estudos em animais. É importante indicar o número do registro do projeto no respectivo Comitê ou Comissão de Ética, bem como da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP), se aplicável.

## **PREPARO DO ARTIGO**

O cadastro no sistema como autor e posterior acesso com login e senha são obrigatórios para submissão e verificação do estágio das submissões.

Identificação: devem constar: a) Título do artigo, claro e conciso. Não usar abreviaturas. Título reduzido para constar no cabeçalho e título no idioma inglês; b) Nome completo dos autores; c) Afiliação dos autores com a indicação da instituição e a unidade de vínculo (títulos pessoais e cargos ocupados não deverão ser indicados); d) Indicação do autor correspondente, acompanhada do endereço institucional completo; e) Trabalho apresentado em reunião científica, indicar o nome do evento, o local e a data da realização.

Resumo e Palavras-chave: os artigos devem conter o resumo em português e em inglês. Verificar a estrutura e o número máximo de palavras conforme descrito para cada tipo de artigo específico (ver anteriormente). Os resumos estruturados, exigidos apenas para os artigos originais, devem apresentar, no início de cada parágrafo, o nome das subdivisões que compõem a estrutura formal do artigo (Introdução, Métodos, Resultados e Conclusões). As palavras-chave, expressões que representam o assunto tratado no trabalho, devem ser em número de 3 a 10,

fornecidas pelo autor, baseando-se no DeCS (Descritores em Ciências da Saúde) publicado pela Bireme, que é uma tradução do MeSH (Medical Subject Headings) da National Library of Medicine, disponível no endereço eletrônico: <http://decs.bvs.br>. As palavras-chave devem ser apresentadas em português e em inglês.

Manuscrito: deverá obedecer à estrutura exigida para cada categoria de artigo. Citações no texto e as referências citadas nas legendas das tabelas e das figuras devem ser numeradas consecutivamente na ordem em que aparecem no texto, com algarismos arábicos. As referências devem ser citadas no texto sobrescritas, conforme o exemplo: Texto1 . texto1-3, texto4,6,9 .

Tabelas: devem ser numeradas consecutivamente, com algarismos arábicos, na ordem em que foram citadas no texto e encabeçadas por um título apropriado. Devem ser citadas no texto, mas deve-se evitar a duplicação de informação. As tabelas, com seus títulos e rodapés, devem ser autoexplicativas. As abreviações devem ser especificadas como nota de rodapé sem indicação numérica. As demais notas de rodapé deverão ser feitas em algarismos arábicos e sobrescritas.

Figuras e gráficos: as ilustrações (fotografias, gráficos, desenhos, etc.) devem ser enviadas em arquivos separados, em formato JPG (em alta resolução – no mínimo, 300 dpi). Devem ser numeradas consecutivamente com algarismos arábicos, na ordem em que foram citadas no texto e serem suficientemente claras para permitir sua reprodução e estarem no mesmo idioma do texto. Não serão aceitas fotocópias. Se houver figuras extraídas de outros trabalhos previamente publicados, os autores devem providenciar a permissão, por escrito, para a sua reprodução. Esta autorização deve acompanhar os manuscritos submetidos à publicação. As figuras devem possuir um título e legenda (se necessário). Ambos devem preceder a figura propriamente dita.

Abreviações: as abreviações devem ser indicadas no texto no momento de sua primeira utilização. No restante do artigo, não é necessário repetir o nome por extenso.

Nome de medicamentos: deve-se usar o nome genérico.

Havendo citação de aparelhos/equipamentos: todos os aparelhos/equipamentos citados devem incluir modelo, nome do fabricante, estado e país de fabricação.

Agradecimentos: devem incluir a colaboração de pessoas, grupos ou instituições que tenham colaborado para a realização do estudo, mas cuja contribuição não justifique suas inclusões como autores; neste item devem ser incluídos também os agradecimentos por apoio financeiro, auxílio técnico, etc. Devem vir antes das referências bibliográficas.

Conflitos de interesse: Caso haja algum conflito de interesse (ver anteriormente) o mesmo deve ser declarado. Caso não haja, colocar nesta seção: “Os autores declaram não haver conflito de interesse”

Referências: devem ser numeradas consecutivamente, na mesma ordem em que foram citadas no texto e identificadas com algarismos arábicos. A apresentação deverá estar baseada no formato denominado “Vancouver Style”, conforme exemplos abaixo, e os títulos de periódicos deverão ser abreviados de acordo com o estilo apresentado pela List of Journal Indexed in Index Medicus, da National Library of Medicine e disponibilizados no endereço: <ftp://nlmpubs.nlm.nih.gov/online/journals/ljiweb.pdf>. Os autores devem certificar-se de que as referências citadas no texto constam da lista de referências com datas exatas e nomes de autores corretamente grafados. A exatidão das referências bibliográficas é de responsabilidade dos autores. Comunicações pessoais, trabalhos inéditos ou em andamento poderão ser citados quando absolutamente necessários, mas não devem ser incluídos na lista de referências e apenas citados no texto. Caso entendam necessário, os editores podem solicitar a apresentação de trabalhos não publicados citados no manuscrito.

Exemplos de citação de referências:

Artigos de periódicos (de um até seis autores)

Almeida OP. A autoria de artigos científicos: o que fazem os tais autores? Rev Bras Psiquiatr. 1998;20:113-6.

#### Artigos de periódicos (mais de seis autores)

Slatopolsky E, Weerts C, Lopez-Hilker S, Norwood K, Zink M, Windus D, et al. Calcium carbonate as a phosphate binder in patients with chronic renal failure undergoing dialysis. *N Engl J Med.* 1986;315:157-61.

#### Artigos sem nome do autor

Cancer in South Africa [editorial]. *S Afr Med J.* 1994;84:15.

#### Livros no todo

Ringsven MK, Bond D. *Gerontology and leadership skills for nurses.* 2nd ed. Albany (NY): Delmar Publishers; 1996.

#### Capítulos de livro

Phillips SJ, Whisnant JP. Hypertension and stroke. In: Laragh JH, Brenner BM, editors. *Hypertension: pathophysiology, diagnosis, and management.* 2nd ed. New York: Raven Press; 1995. p. 465-78.

#### Livros em que editores (organizadores) são autores

Norman IJ, Redfern SJ, editors. *Mental health care for elderly people.* New York: Churchill Livingstone; 1996.

#### Teses

Kaplan SJ. *Post-hospital home health care: the elderly's access and utilization* [dissertation]. St. Louis (MO): Washington Univ.; 1995.

#### Trabalhos apresentados em congressos

Bengtsson S, Solheim BG. Enforcement of data protection, privacy and security in medical informatics. In: Lun KC, Degoulet P, Piemme TE, Rienhoff O, editors. *MEDINFO 92. Proceedings of the 7th World Congress on Medical Informatics;* 1992 Sep 6-10; Geneva, Switzerland. Amsterdam: North-Holland;1992. p. 1561-5.

Artigo de periódico em formato eletrônico

Morse SS. Factors in the emergence of infectious diseases. Emerg Infect Dis [serial online] 1995 Jan-Mar [cited 1996 Jun 5];1(1):[24 screens]. Available from: URL:<http://www.cdc.gov/ncidod/EID/eid.htm>.

Outros tipos de referência deverão seguir o documento International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Sample References  
[http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform\\_requirements.html](http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html)

Requisitos técnicos: Arquivo word (doc ou .rtf), digitado em espaço duplo, fonte tamanho 12, margem de 2 cm de cada lado, página de título, resumo e descritores, texto, agradecimentos, referências, tabelas e legendas e as imagens enviadas em formato jpg ou tiff com resolução mínima de 300dpi.